

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

OVĚŘENÍ PRAVOSTI POMERANČOVÉ ŠŤÁVY DIZZY  
NA ZÁKLADĚ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH PARAMETRŮ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

KATEŘINA DRAHOVZALOVÁ

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ  
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ  
FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

## OVĚŘENÍ PRAVOSTI POMERANČOVÉ ŠŤÁVY DIZZY

### NA ZÁKLADĚ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH PARAMETRŮ

THE CONTROL OF DIZZY ORANGE JUICE AUTHENTICITY  
ON THE BASIS OF SELECTED CHEMICAL PROPERTIES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE  
BACHELOR'S THESIS

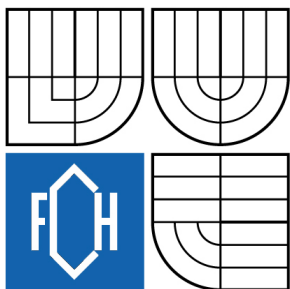
AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

KATEŘINA DRAHOVZALOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE  
SUPERVISOR

PhDr. MIROSLAV HRSTKA, Ph.D.

BRNO 2008



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce

**FCH-BAK0003/2007**

Akademický rok: **2007/2008**

Ústav

Ústav chemie potravin a biotechnologií

Student(ka)

**Drahovzalová Kateřina**

Studijní program

Chemie a technologie potravin (B2901)

Studijní obor

Potravinářská chemie (2901R021)

Vedoucí bakalářské práce

**PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.**

Konzultanti bakalářské práce

### Název bakalářské práce:

Ověření pravosti pomerančové šťávy DIZZY  
na základě vybraných chemických parametrů

### Zadání bakalářské práce:

1. V teoretické části práce definovat pomerančovou šťávu, popsat technologii výroby, legislativu v Evropské unii a v České republice, nejčastější způsoby falšování a uvést analytické metody pro zjišťování pravosti ovocných šťáv.
2. V experimentální části provést vybraná stanovení a na základě získaných výsledků vyvodit závěry o pravosti pomerančové šťávy DIZZY.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 30.5.2008

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

---

Kateřina Drahovzalová  
student(ka)

---

PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.  
Vedoucí práce

---

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2007

---

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Tato práce ověřuje pravost pomerančové šťávy DIZZY na základě vybraných chemických parametrů. Teoretická část je zaměřena především na definici základních pojmů týkajících se pomerančové šťávy, technologii výroby pomerančové šťávy, legislativu v Evropské unii a v České republice a na metody, které se používají na zjištění pravosti pomerančové šťávy.

V experimentální části byla provedena vybraná normovaná stanovení a na základě jejich výsledků byl vysloven závěr, že analyzovaná pomerančová šťáva DIZZY byla pravá.

## **ABSTRACT**

This study deals DIZZY orange juice authenticity on the basis of selected chemical properties. The theoretical part is focused on the basic terms concerning the orange juice, legislation in the EU, legislation in the Czech Republic and methods, which determine the authenticity of orange juices.

In experimental part I made selected analytical methods to determine the authenticity of DIZZY orange juice. The results showed that DIZZY orange juice was authentic.

## **Klíčová slova**

Pomerančová šťáva, legislativa, falšování, autentifikace.

## **Keywords**

Orange juice, legislation, adulteration, authentication.

DRAHOVZALOVÁ, K. *Ověření pravosti pomerančové šťávy DIZZY na základě vybraných chemických parametrů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 48 s. Vedoucí bakalářské práce PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že bakalářská práce byla vypracována samostatně a že všechny použité literární zdroje jsou správně a úplně citovány.

.....

podpis

*Poděkování: Chtěla bych poděkovat panu PhDr. Miroslavu Hrstkovi, Ph.D. za obětavou pomoc při realizaci této práce.*

## OBSAH

1 Úvod .....	7
2 Teoretická část.....	8
2.1 Základní pojmy .....	8
2.2 Výroba pomerančových šťáv .....	8
2.2.1 Výroba koncentrátů .....	9
2.3 Legislativa v EU .....	10
2.3.1 Historie legislativy v EU .....	11
2.3.2 AIJN kodex .....	12
2.4 Legislativa v České republice .....	15
2.5. Pravost ovocných šťáv a jejich falšování .....	20
2.5.1 Nejčastější způsoby falšování ovocných šťáv .....	21
2.6 Analytické metody pro zjišťování pravosti ovocných šťáv .....	22
3 Experimentální část .....	25
3.1 Materiál .....	25
3.2 Metody .....	25
3.2.1 Stanovení relativní hustoty podle normy ČSN EN 1131 .....	25
3.2.2 Stanovení obsahu rozpustné sušiny podle ČSN EN 12143.....	26
3.2.3 Stanovení kyseliny L-askorbové .....	26
3.2.4 Stanovení hodnoty pH podle ČSN EN 1132.....	28
3.2.5 Stanovení titrační kyselosti podle ČSN EN 12147 .....	28
3.2.6 Stanovení kyseliny mléčné.....	28
3.2.7 Stanovení formolového čísla podle ČSN EN 1133 .....	30
3.2.8 Enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové podle ČSN EN 1137 .....	30
3.2.9 Stanovení aminokyselin automatickým analyzátozem.....	31
4 Výsledky.....	33
4.1 Stanovení relativní hustoty podle normy ČSN EN 1131 .....	33
4.2 Stanovení obsahu rozpustné sušiny – podle ČSN EN 12143.....	34
4.3 Titrační stanovení kyseliny L-askorbové .....	35
4.4 Stanovení hodnoty pH podle ČSN EN 1132.....	37
4.5 Stanovení titrační kyselosti podle ČSN EN 12147 .....	38
4.6 Stanovení formolového čísla podle ČSN EN 1133.....	40
4.7 Stanovení kyseliny mléčné.....	41

4.8 Enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové podle ČSN EN 1137.....	42
4.9 Stanovení aminokyselin automatickým analyzátozem.....	43
5 Závěr.....	46
6 Literatura .....	47
7 Seznam zkratek .....	48

# 1 ÚVOD

Průmyslová výroba ovocných resp. zeleninových šťáv souvisí s objevem tzv. pasterizace, tj. zničení mikroorganismů způsobujících kvašení ohřátím produktu na vysokou teplotu (do 100 °C). Průmyslově první využil pasteraci pro výrobu ovocných šťáv v roce 1869 Thomas Bramwell Welch a velkou zásluhu na rozšíření této technologie měla práce známého šlechtitele vinné révy Herrmanna Müllera z roku 1896, v které upozornil na vysokou výživovou hodnotu ovocných šťáv ošetřených pasterací. Od 30. let 20. století se již používá ostré filtrace, enzymové čiření a řada progresivních metod k výrobě ovocných i zeleninových šťáv.

Ovocné šťávy jsou zdrojem vitamínu C, cukrů, organických kyselin, aminokyselin a mnoha dalších fyziologicky významných sloučenin. Obsahují rovněž vysoký podíl potřebných minerálů jako železo, vápník, hořčík, fosfor nebo draslík ve vhodně zastoupeném poměru. Dále jsou šťávy zdrojem stopových prvků jako manganu, zinku (podílí se na tvorbě inzulinu) či kobaltu (nutný pro utilizaci vitamínu B12), ale bohužel i dusičnanů nebo těžkých kovů (rtuť, olovo, kadmium).

Průměrná roční spotřeba ovocných šťáv se v zemích EU pohybuje již přes 23 litrů na osobu, z toho nejvyšší je v Německu (více než 41 l/os). Výrazný nárůst spotřeby zaznamenalo Finsko ze 14 l/os. v roce 1990 na dvojnásobek v roce 1999 a tím se přiblížilo vysoké spotřebě v USA (přes 30 l/os). Výrazným producentem v Evropě se stalo Polsko, které zvýšilo výrobu z 80 mil. litrů v roce 1992 na více než sedminásobek v roce 1998.

Všeobecně závazné předpisy a limity ukazatelů kvality ovocných nápojů pro EU jsou shrnuty v kodexu AIJN (Association of the Industry of Juices and Nectars) Code of Practice. Kromě požadavků uvedených v AIJN Code of Practice musí výrobky splňovat požadavky národní legislativy. Požadavky na ovocné šťávy v České republice jsou dány prováděcí vyhláškou zákona 110/97 č. 335/1997 Sb., v platném znění, po poslední novelizaci 23. 2. 2000. Analytické charakteristiky pomerančové šťávy uvádí norma ČSN 56 8541, která se pouze v detailech liší od AIJN Code of Practice.

Cílem této práce bylo ověřit pravost pomerančové šťávy DIZZY na základě vybraných chemických parametrů. Pravost analyzovaného vzorku byla určena porovnáním získaných experimentálních výsledků s požadavky AIJN Code of Practice a platné normy ČSN 56 8541.



## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Základní pojmy [1]

*Pomerančová šťáva* je definována v normě ČSN 56 8541 jako zkvasitelná, ale nekvašená kapalina získaná z endokarpu zralého a zdravého ovoce druhu *Citrus sinensis* mechanickými postupy a popřípadě fyzikálně ošetřena.

Současně norma ČSN 56 8541 definuje ještě tyto pojmy:

*Přímá šťáva* je šťáva získaná lisováním přímo z ovoce bez zakoncentrování a následné rekonstituce.

*Šťáva vyrobená z koncentrátu* je šťáva získaná přidáním vody vhodné kvality a aroma odděleného při koncentraci ke koncentrátu v takovém množství, aby výsledný produkt dosahoval kvality původní šťávy.

*Šťáva s přídavkem dužniny* je šťáva, do které byla přidána dužnina (buňky) ve svém původním množství; výrobek s přídavkem dužniny musí být takto označen.

„*Pulp wash*“ je produkt vzniklý druhým lisováním pomerančové dužniny, obsahující vyšší podíl pektinových látek a flavonoidních glykosidů; přídavek „*pulp wash*“ do výrobku označeného jako „pomerančová šťáva“ není přípustný.

*Rátio* je poměr refraktometrické sušiny (v %) a kyselosti (vyjádřeno jako kyselina citronová bezvodá v %).

*Rekonstituce* je opětovné doplnění podílu vody popř. aroma (které byly odebrány v průběhu koncentrace šťávy) při výrobě šťávy z koncentrátu.

### 2.2 Výroba pomerančových šťáv

Pomeranče dozrávají na stromě a po odtržení se proces zrání zastavuje. Zralost pomerančů se stanovuje odebráním reprezentativních vzorků, které jsou vymačkány a posouzeny. Sleduje se kyselost, množství sušiny a poměr cukr/kyselost. Po dosažení dostatečné zralosti může nastat sklizeň pomerančových plodů.

Pomeranče jsou ručně česány, nakládány a odváženy do továrny na zpracování. V továrně probíhá proces vážení a pomeranče jsou vykládány na dopravní pás, kde probíhá jejich kontrola a vytřídění nezralých nebo nahnilých plodů. Dále plody procházejí pračkou, kde se zbaví nečistot ponořením do mycího roztoku a osprchováním čistou vodou. Část slupky obsahující silice je seškrábána škrabkou. Očištěné a částečně oškrábané plody putují do lisu, kde probíhá lisování a získává se kašovitá hmota. Hmota obsahující semena, dužninu

i slupky je vedena přes síta, kde se zbaví dužniny, semen i slupek. Tento odpad se používá jako krmivo pro dobytek nebo se po namočení mohou použít k novému lisování.

Přímá šťáva – PREMIUM – je pasterována při 95 °C 15 s nebo při 90 °C po dobu 60 s a tato šťáva je ještě za horka plněna do obalů.

Šťáva z druhého lisování – PULP WASH – se vyrábí z již jednou vymačkané pomerančové dužniny. Tato šťáva je světlá, hořká, trpká a je méně kvalitní než PREMIUM, protože obsahuje více dužniny.

Vylisovaná šťáva je zahuštěna, což se provádí tepelnými procesy za normálního nebo sníženého tlaku. V menší míře se voda odstraňuje vymrazováním. Konzervace se provádí zahuštěním pomocí tenkovrstvých trubkových odparek do polotekutého až polotuhého stavu, kde je obsah sušiny nejméně 60 %. Dále jsou šťávy zmrazeny a transportovány [2].

### **2.2.1 Výroba koncentrátů**

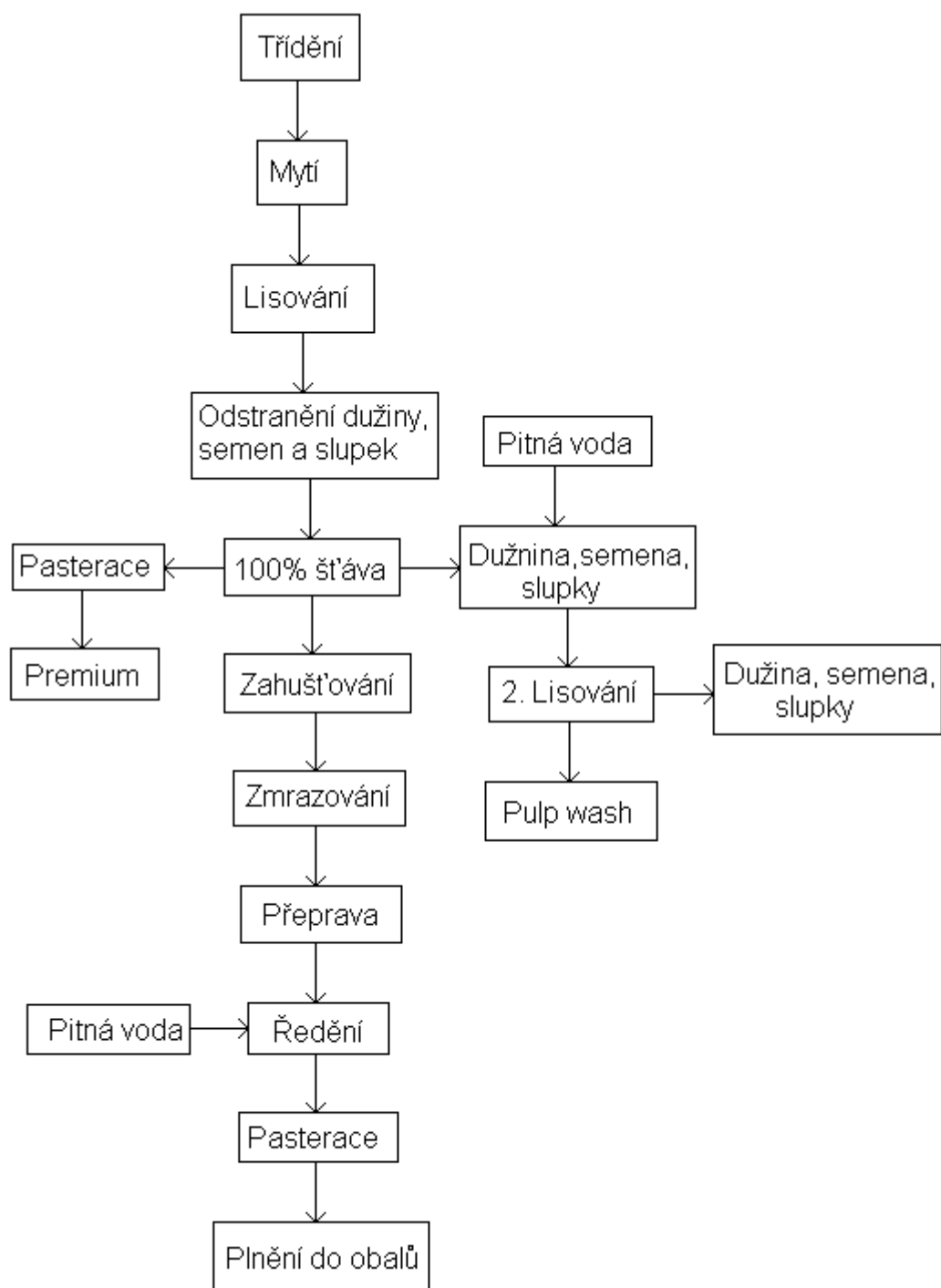
Všechny šťávy na našem trhu jsou vyrobeny z koncentrátů. Principem výroby koncentrátů je zahuštění ovocné šťávy až na koncentraci rozpustné sušiny 65–70 %. Výsledný koncentrát má nízké pH a nízkou aktivitu vody a díky tomu je samoúdržný. Takový koncentrát se vyrábí ze surové ovocné šťávy zbavené hrubých kalů. Odlisovaná šťáva z hrubých kalů se nejprve vede do odparky, kde se při teplotách odpovídajících cca 100 °C odpaří voda v množství 10–30 %. Současně s vodou se odpaří i podíl těkavých aromatických látek.

V surové šťávě se nacházejí zákalotvorné látky, které působí opalescenci šťávy, dále se v ní nachází rozpuštěný pektin, který stabilizuje koloidy. Nejprve se tedy musí odstranit pektin, což se provádí pektolytickými enzymy. Po odstranění pektinu se ze šťávy vylučují látky, které jsou pektinem stabilizovány. Kaly se odstraňují buď pomocí ultrafiltrace, nebo přidávkem taninu a želatiny, které tvoří ve šťávě sraženinu a na ni se naváží kaly. Lze také použít nerozpustné sorbenty, které poutají kaly na svůj povrch (křemičitanový gel). Vyrobený koncentrát se nezakaluje a šťávy z něho připravené by měly být čiré.

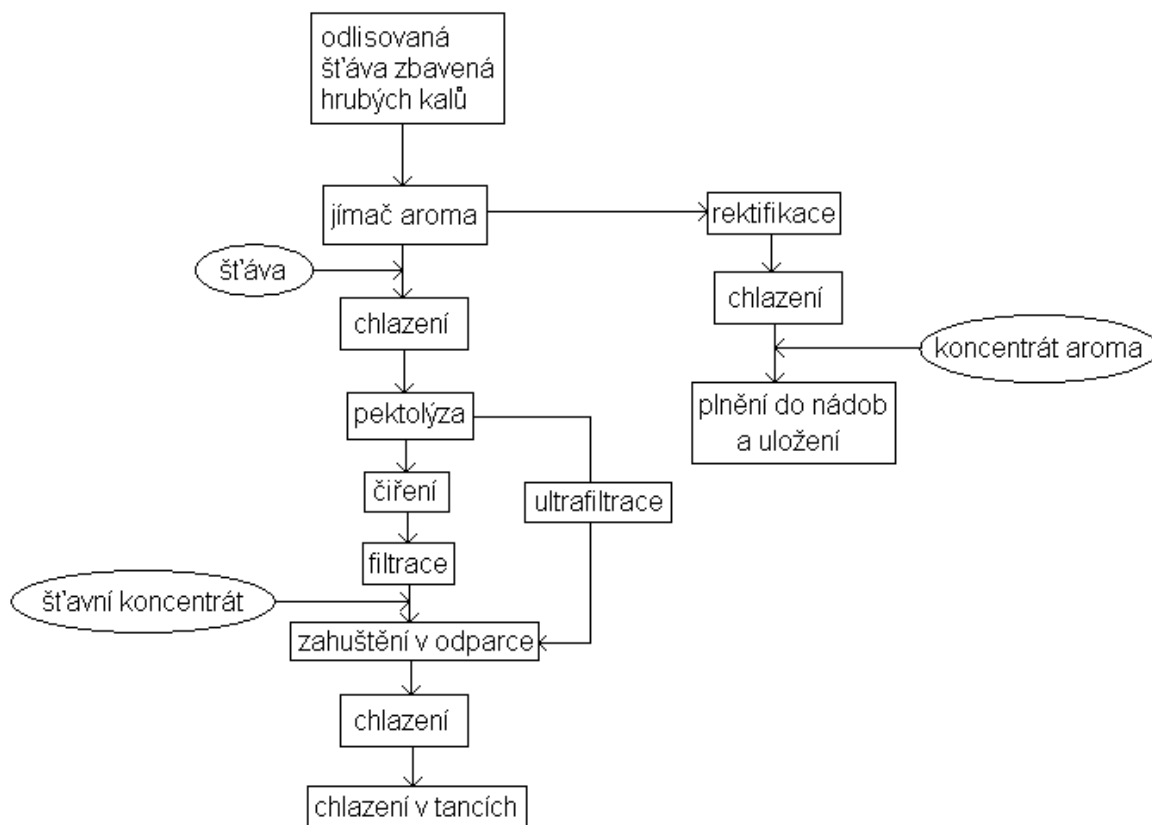
Vlastní koncentrace šťáv probíhá ve třech až čtyřčlenných odparkách. Teploty se pohybují v rozmezích 50 °C (obvyklá teplota koncentráту na výstupu) až 100 °C (teplota na jímači aroma). Dále se koncentrát chladí a plní se do velkoobjemových tanků, kde se při nižších teplotách skladuje. Páry se z jímače aroma vedou do rektifikační kolony, kde se zkoncentrují a získává se koncentrát aroma.

Vyrobený koncentrát by měl mít sirupovitou konzistenci a 65 % rozpuštěné sušiny. Pokud je koncentrát vyroben z barevného ovoce, měl by být světlý, čirý, ovocné chuti bez cizích

příchutí a přípachů, s obsahem kyselin 2 až 6 %. Běžná doba trvanlivosti by měla být 10 měsíců [3].



Obr. 1: Schéma výroby pomerančových šťáv [2].



Obr. 2: Schéma výroby koncentrátů pomerančových šťáv [3].

## 2.3 Legislativa v Evropské unii

### 2.3.1 Historie legislativy v EU

S rozvojem průmyslové výroby ovocných šťáv je spojeno i jejich falšování. První případ falšování ovocných nápojů se objevil v roce 1950 v USA. V roce 1884 [5] vznikla v USA organizace Association of Official Analytical Chemists (AOAC), která připravuje AOAC normy pro obsahy jednotlivých složek nápojů a i pro jejich stanovení. Postupně se objevila potřeba charakterizovat jednotlivé typy ovocných nápojů a šťáv z hlediska jejich kvality a autenticity.

V 70. letech minulého století vznikl v Německu systém norem RSK (Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen), který publikovala Association of the German Fruit Juice Industry. V roce 1977 systém RSK obsahoval normalizované hodnoty a jejich rozsahy pro jablečnou, grapefruitovou a pomerančovou šťávu. Postupem času se RSK systém rozrostl i o další druhy ovocných šťáv. Dnes je RSK systém rozdělen do čtyř základních

skupin: standardní hodnoty, rozmezí hodnot, průměrné hodnoty a komentáře k těmto hodnotám.

V Holandsku platil od roku 1977 předpis pro ovocné šťávy (Dutch Fruit Juice Regulation, DFJR), který obsahoval povolené hodnoty a definice pojmů ovocných šťáv a koncentrátů.

V každé zemi se předpisy vyvíjely odlišně a to, co v jedné zemi splňovalo normy, nevyhovovalo normám v zemi jiné. Výrobci z jednotlivých zemí se tedy snažili sjednotit a stanovit jednotná hlediska, podle kterých by měly být nápoje a šťávy vyráběny.

V EU vznikla v roce 1975 Směrnice č. 75/26/EHC zabývající se ovocnými šťávami a podobnými výrobky. V roce 1993 byla tato směrnice přepracována, doplněna a dostala název Směrnice č. 93/77/EHC pro ovoce a některé výrobky stejného typu. Tato směrnice, která je pro členské státy Evropské unie právně závazná, definuje jednotlivé typy ovocných nápojů z hlediska surovin používaných k výrobě, technologie výrob, povolené a zakázané postupy při výrobě a manipulaci a povolená aditiva. Směrnice neobsahuje analytické a mikrobiologické vlastnosti definovaných výrobků ani metody jejich stanovení. Tato problematika je zahrnuta v referenční příručce AIJN Code of Practice, která byla vytvořena Asociací výrobců ovocných šťáv a nektarů (Association of the Industry of Juices and Nectars – AIJN). V roce 1994 vznikl EQCS – European Quality Control System, ve kterém se sdružují národní kontrolní systémy, jejichž cílem je podpora volného a čestného obchodu, monitorování kvality a autenticity a odhalování falšování [6].

### **2.3.2 AIJN kodex**

AIJN Code of Practice udává analytické a mikrobiologické vlastnosti ovocných šťáv a je základem referenčních standardů pro ovocné šťávy ve většině evropských zemí [4].

#### ***Referenční standard EU pro pomerančovou šťávu***

Referenčním standardem se rozumí směrnice pro vyhovující pomerančovou šťávu. Kritéria A uvedená v tabulce 3 jsou absolutní požadavky ve vztahu ke kvalitě šťávy. Kritéria B uvedená v tabulce 4 jsou potřeba ke stanovení identity a pravosti. Je-li nějaké kritérium mimo rozmezí uvedené v části B, neznamená to, že je daný vzorek falšovaný. Naopak, kritéria, která vyhovují parametrům pravosti nemusí znamenat autenticitu. Pro posouzení identity a pravosti je třeba komplexně vyhodnotit všechna kritéria, uvedená v části B [2].

Tabulka 3: AIJN kodex – absolutní požadavky na kvalitu (část A) [2].

Kritérium	Jednotky	Meze	Hodnota
Relativní hustota 20/20		min.	1,045*
Odpovídající hodnota Brix		min.	11,2
L-askorbová kyselina	mg/l	min.	200
Těkavé kyseliny a kys. citronová	g/l	max.	0,4
Ethanol	g/l	max.	3,0
Kys. mléčná	g/l	max.	0,5
Kys. siřičitá	mg/l	max.	10,0
Sodík	mg/l	max.	30**
Dusičnany	mg/l	max.	10**
Těžké kovy			
Arsen	mg/l	max.	0,1
Olovo	mg/l	max.	0,2
Měď	mg/l	max.	5,0
Zinek	mg/l	max.	5,0
Železo	mg/l	max.	5,0***
Cín	mg/l	max.	1,0***
Rtuť	mg/l	max.	0,01
Kadmium	mg/l	max.	0,02

\* – Přímou získaná pomerančová šťáva z různých oblastí vyrobená z různých odrůd může dávat nižší hodnoty, ale nejnižší akceptovaná hodnota je min. 1,040 (nebo 10 ° Brix). Výjimkou jsou pomerančové šťávy z koncentrátů vyrobených ze španělských pomerančů, kde je hodnota 1,040 (nebo 10 ° Brix) považována za dobrou.

\*\* – pro šťávy z koncentrátů, může být ovlivněno vodou použitou k rekonstituci

\*\*\* – pro šťávy v plechovkách je pravděpodobné zvýšení těchto kritérií, ale neměly by se překročit oficiální limity [2].

Tabulka 4: AIJN kodex – další parametry k vyhodnocení pravosti a totožnosti (část B) [4].

Kritérium	Jednotky	Spodní mez	Horní mez
Titrační kyselost při pH 8,1	meq/l	90	240
Kyselina citronová	g/l	6,3	17,0
Kyselina D-isocitronová	mg/l	65	200
Poměr kys. citronová/kys. D-isocitronová			max. 140
Kyselina L-jablečná	g/l	0,8	3,0
Popel	g/l	2,8	5,0
Draslík	mg/l	1300	2500
Hořčík	mg/l	70	160**
Vápník	mg/l	60	150**
Fosfor celkový	mg/l	115	210
Sírany	mg/l		max. 150
Formolové číslo (ml 0,1 mol.l <sup>-1</sup> NaOH/100ml)		15	26
Hesperidin	mg/l		max. 1000
Pektiny rozpuštění ve vodě	mg/l		max. 500
Celkové pektiny	mg/l		max. 700
Glukosa	g/l	20	50
Fruktosa	g/l	20	50
Poměr glukosa/fruktosa			max. 1,0
Sacharosa	g/l	15	50
Bezcukerný extrakt	g/l	24	50

Tabulka 5: AIJN kodex – další parametry k vyhodnocení pravosti a totožnosti (část B) [4].

Aminokyselina	Značka	M <sub>r</sub>	Jednotky	Spodní mez	Horní mez
Kyselina asparagová	Asp	133	mg/l	200	400
Threonin	Thr	119	mg/l	10	50
Serin	Ser	105	mg/l	105	210
Asparagin	Asn	132	mg/l	225	660
Kyselina glutamová	Glu	147	mg/l	75	205
Glutamin	Gln	146	mg/l		max. 75
Prolin	Pro	115	mg/l	450	2090
Glycin	Gly	75	mg/l	10	25
Alanin	Ala	89	mg/l	60	205
Valin	Val	117	mg/l	10	30
Methionin	Met	149	mg/l		max. 5
Isoleucin	Ile	131	mg/l	3	15
Leucin	Leu	131	mg/l	3	15
Tyrosin	Tyr	181	mg/l	5	20
Fenylalanin	Phe	165	mg/l	15	55
γ-Aminomáselná kyselina	GABA	103	mg/l	180	500
Ornithin	Orn	132	mg/l	3	20
Lysin	Lys	146	mg/l	20	65
Histidin	His	155	mg/l	5	25
Arginin	Arg	174	mg/l	400	1000

## 2.4 Legislativa v České republice

Požadavky na ovocné šťávy v České republice jsou dány prováděcí vyhláškou zákona 110/97 č. 335/1997 Sb., v platném znění, po poslední novelizaci 23. 2. 2000. Analytické charakteristiky pomerančové šťávy uvádí norma ČSN 56 8541, která se pouze v detailech liší od AIJN Code of Practice. Stejně jako AIJN Code of Practice je rozdělena na část A



(Tabulka 6) , která udává absolutní požadavky na kvalitu a část B (Tabulka 7 a 8), která zahrnuje další požadavky pro zjišťování identity a autenticity.

*Tabulka 6: ČSN 56 8541. Část A – absolutní požadavky na kvalitu [1].*

	<b>Jednotky</b>	<b>Požadavky</b>
<b>Přímá šťáva</b>		
Relativní hustota 20/20		min. 1,040
Refraktometrická sušina	%	min. 10,0
<b>Šťávy z koncentrátu</b>		
Relativní hustota 20/20		min. 1,044
Refraktometrická sušina	%	min. 11,2
<b>Pro všechny pomerančové šťávy (přímé i z koncentrátů)</b>		
Kyselina L-askorbová	mg/l	min. 200
Těkavé oleje	ml/l	max. 0,3
Těkavé kyseliny jako kyselina octová	g/l	max. 0,4
Ethanol	g/l	max. 3,0
Kyselina mléčná	g/l	max. 0,5
Kyselina D-jablečná	mg/l	není přítomna
Kyselina sírová	mg/l	není přítomna
Hydroxymethylfurfural (HMF)	mg/l	max. 20

Tabulka 7: ČSN 56 8541. Část B – další požadavky pro zjišťování identity a autenticity [1].

	Jednotky	Požadavky
Titrovatelná kyselost při pH 8,1	g/l	5,6–15,4
Kyselina citronová	g/l	6,3–17,0
Kyselina D-isocitronová	mg/l	65–200
Poměr kys. citronová/ kyselina isocitronová		max. 130
Kyselina L-jablečná	g/l	0,8–3,0
Popel	g/l	2,8–5,0
Sodík (Na)	mg/l	max. 30
Draslík (K)	mg/l	1300–2500
Hořčík (Mg)	mg/l	70–160
Poměr draslík (K) hořčík (Mg)		max. 21
Vápník (Ca)	mg/l	60–150
Celkový fosfor (P)	mg/l	115–210
Sířany (jako $\text{SO}_4^{2-}$ )	mg/l	max. 150
Formolové číslo	ml 0,1 mol/l NaOH/ 100 ml	15–26
Hesperidin (dle Davise)	mg/l	max. 1000
Celkové pektiny	mg/l	max. 700
Ve vodě rozpustné pektiny	mg/l	max. 500
Celkové karotenoidy	mg/l	max. 15
$\beta$ -karoten	% z celkových karotenoidů	max. 5
Kryptoxantinester	% z celkových karotenoidů	max. 15
Xantofylester	% z celkových karotenoidů	max. 15
Glukosa	g/l	20–50
Fruktosa	g/l	20–50
Poměr glukosa/fruktosa		max. 1,00
Sacharosa	g/l % z celkových cukrů	10–50 max. 50
Bezcukerný extrakt	g/l	24–40

Tabulka 8: ČSN 56 8541. Část B – další požadavky pro zjišťování identity a autenticity (pokračování) [1].

Aminokyseliny	Značka	M <sub>r</sub>	mg/l	mmol/l
Kyselina asparagová	Asp	133	200–400	1,5–3,1
Threonin	Thr	119	10–50	0,08–0,42
Serin	Ser	105	105–210	1–2
Asparagin	Asn	132	225–660	1,7–5
Kyselina glutamová	Glu	147	75–205	0,51–1,39
Glutamin	Gln	146	max. 75	max. 0,51
Prolin	Pro	115	450–2090	3,91–18,17
Glycin	Gly	75	10–25	0,13–0,33
Alanin	Ala	89	60–205	0,67–2,3
Valin	Val	117	10–30	0,09–0,26
Methionin	Met	149	max. 5	max. 0,03
Isoleucin	Ile	131	3–15	0,02–0,11
Leucin	Leu	131	3–15	0,02–0,11
Tyrosin	Tyr	181	5–20	0,03–0,11
Fenylalanin	Phe	165	15–55	0,09–0,33
γ-Aminomáselná kyselina	GABA	103	180–500	1,75–4,85
Ornithin	Orn	132	3–20	0,02–0,15
Lysin	Lys	146	20–65	0,14–0,45
Histidin	His	155	5–25	0,03–0,16
Arginin	Arg	174	400–1000	2,3–5,75
Poměr formolové číslo prolin			g/l	max. 30
Amoniak			mg/l	max. 25,5
Ethanolamin			mg/l	max. 36,6

V tabulce 9 a 10 jsou uvedeny rozdíly mezi AIJN kodexem a ČSN 56 8541. Z tabulky je zřejmé, že odlišnosti mezi AIJN kodexem a ČSN normou jsou v tabelovaných hodnotách poměru kys. citronová/kys. D-isocitronová, v obsahu sacharosy a bezcukerného obsahu.

*Tabulka 9: Rozdíly mezi AIJN kodexem a ČSN 56 8541.*

	AIJN		ČSN	
	Jednotky	Hodnota	Jednotky	Hodnota
Poměr kyselina citronová / kyselina D-isocitronová	-	max. 140	-	max. 130
Sacharosa	g/l	15–50	g/l	10–50
			% z celk. cukrů	max. 50
Bezcukerný extrakt	g/l	24–50	g/l	24–40
Poměr formolové číslo / prolin	g/l	max. 30	N	N
Amoniak	mg/l	max. 25,5	N	N
Ethanolamin	mg/l	max. 36,6	N	N
Kyselina siřičitá	mg/l	max. 10	N	N
Dusičnany	mg/l	max. 10	N	N
Arsen	mg/l	max. 0,1	N	N
Olovo	mg/l	max. 0,2	N	N
Měď	mg/l	max. 5	N	N
Zinek	mg/l	max. 5	N	N
Železo	mg/l	max. 5	N	N
Cín	mg/l	max. 1	N	N

Tabulka 10: Rozdíly mezi AIJN kodexem a ČSN 56 8541 (pokračování).

	AIJN		ČSN	
	Jednotky	Hodnota	Jednotky	Hodnota
Rtuť	mg/l	max. 0,01	N	N
Kadmium	mg/l	max. 0,02	N	N
Těkavé oleje	N	N	ml/l	max. 0,3
Kyselina D-jablečná	N	N	mg/l	NP
Kyselina sírová	N	N	mg/l	NP
Hydroxymethylfurfural (HMF)	N	N	mg/l	max. 20
Poměr draslík (K) hořčík (Mg)	N	N	-	max. 21
Celkové karotenoidy	N	N	mg/l	max. 15
β-karoten	N	N	% z celk. karotenoidů	max. 5
Kryptoxantiner	N	N	% z celk. karotenoidů	max. 15
Xantofylester	N	N	% z celk. karotenoidů	max. 15

N – neuvádí

NP – není přítomna

## 2.5. Pravost ovocných šťáv a jejich falšování

Falšování, tj. nedodržení deklarovaného složení, udávání nesprávného původu, stáří aj., je problémem výroby všech potravin. Falšování postihuje všechny oblasti výrobků, které jsou vyráběny především ve velkých objemech a drahé produkty. Nejčastěji jsou falšovány tyto potravinářské výrobky: tuky a oleje z 30 %, mléko a mléčné výrobky z 25 %, ovocné a zeleninové šťávy (zejména 100 % šťávy) z 12 %, maso a masné výrobky (suroviny) z 9 % aj.

### 2.5.1 Nejčastější způsoby falšování ovocných šťáv

Nejjednodušší formou falšování je zředění ovocné šťávy vodou pod předepsanou hodnotu Brix.

Dalším způsobem falšování jsou nedeklarované přídavky cukru. Jako zboží je cukr mnohem levnější než ovocná šťáva, a proto jeho přidání ke šťávě za účelem zvýšení hodnoty Brix může být ekonomicky výhodné. Ovocné šťávy se falšují přídavkem řepného nebo třtinového cukru, a to ve formě zrnkového cukru nebo jako modifikovaného cukrového sirupu.

Dále se používají nedeklarované přídavky jiných, levnějších typů ovoce. Příkladem falšování tohoto typu je použití grapefruitů místo pomerančů nebo hrušek místo jablek.

Vážným problémem, především u pomerančových šťáv, je přídavek extraktu z dužniny a extraktu z druhého lisování. AIJN kodex a rovněž ČSN 56 8541 předepisuje získávat pomerančovou šťávu z endokarpu zralých a zdravých pomerančů. V této části plodu je dužnina, buňky, pestíková membrána a semena. Šťáva z druhého lisování, tzv. pulp wash, je materiál, který se získává promytím zbývajících dužniny a pestíkových membrán po vylisování přímé šťávy. Přídavek pulp wash není v zemích EU povolen, ale je akceptován v USA do maximální hodnoty 10 %.

Časté je rovněž přidávání organických kyselin nebo chemických látek, které zvyšují aroma a barvu ovocné šťávy (např. nedeklarované přísady  $\beta$ -karotenu do pomerančových šťáv) [4].

Celkově se falšování dá shrnout jako úplná nebo částečná náhrada drahé suroviny surovinou levnější, uvedení jiného místa původu produktu, snížení obsahu podílu suroviny a případně maskování nedodržení technologie (např. snížení ovocného podílu v ovocných nápojích přídavkem cukru a kyseliny), zneužití známé značky (falešný prodej produktů pod dražší obchodní značkou), nesplnění mikrobiologických požadavků, použití narušených, dlouho skladovaných surovin, vyrobených podle nevyhovujících technologických procesů [5].

## 2.6 Analytické metody pro zjišťování pravosti ovocných šťáv

Tabulka 11: Analytické metody publikované Evropskou komisí pro normalizaci (CEN) [4].

Parametry	Analytické metody	CEN reference
Relativní hustota d <sub>20 °C/20 °C</sub>	Pyknometrie	EN 1131
pH	Potenciometrie	EN 1132
Formolové číslo	Potenciometrie	EN 1133
Na, K, Ca a Mg obsah	AAS	EN 1134
Obsah popela	Gravimetrie	EN 1135
Obsah fosforu	Spektrofotometrie	EN 1136
Kyselina citronová	Spektrofotometrické měření enzymové oxidace NADH	EN 1137
Kyselina L-jablečná	Spektrofotometrické měření enzymové oxidace NADH	EN 1138
Kyselina D-isocitronová	Spektrofotometrické měření enzymové oxidace NADH	EN 1139
Obsah D-glukosy a D-fruktosy	Spektrofotometrické měření enzymové oxidace NADPH	EN 1140
Obsah prolinu	Spektrofotometrie	EN 1141
Obsah sulfátů	Gravimetrie	EN 1142
Odhad obsahu rozpustných tuhých látek	Refraktometrie	EN 12143
Celková alkalita popela	Titrační metoda	EN 12144

Tabulka 12: Analytické metody publikované CEN (pokračování).

Parametry	Analytické metody	CEN reference
Celková sušina	Gravimetrie	EN 12145
Obsah sacharosy	Spektrofotometrie	EN 12146
Titrovatelná kyselost	Poteciometrická titrační metoda	EN 12147
Hesperidin a naringin	HPLC	EN 12148
Obsah chloridů	Poteciometrická titrační metoda	PREN 12133
Cetrifugovatelný obsah dužniny	Cetrifugace	PREN 12134
Obsah dusíku	Kjedahlova metoda	PREN 12135
Celkový obsah karotenoidů a jednotlivých karotenoidových frakcí	Chromatografické rozdělení na $\text{Al}_2\text{O}_3$	PREN 12135
Kyselina vinná ve šťávách z hroznů	HPLC	PREN 12136
Kyselina D-jablečná	Spektrofotometrické měření enzymové redukce $\text{NAD}^+$	EN 12138
Poměr izotopů $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ v cukrech z ovocných šťáv	Hmotnostní spektrometrie	ENV 12140
Poměr izotopů $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ve vodě z ovocných šťáv	Hmotnostní spektrometrie	ENV 12141
Poměr izotopů $^2\text{H}/^1\text{H}$ ve vodě z ovocných šťáv	Hmotnostní spektrometrie	ENV 12142
Obsah D- a L- kyseliny mléčné	Spektrofotometrické měření enzymové redukce $\text{NAD}^+$	PREN 12631



*Tabulka 13: Analytické metody publikované CEN (pokračování).*

<b>Parametry</b>	<b>Analytické metody</b>	<b>CEN reference</b>
Obsah kyseliny octové	Spektrofotometrické měření enzymové redukce NAD <sup>+</sup>	PREN 12632
Glukosa, fruktosa, sorbitol a sacharosa	HPLC	PREN 12630
Poměr izotopů <sup>13</sup> C/ <sup>12</sup> C v dužnině ovocné šťávy	Hmotnostní spektrometrie	ENV 13070
Celkový SO <sub>2</sub>	Destilace	PREN 13196

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Materiál

Dizzy – 100% pomerančová šťáva z pomerančového koncentrátu, pasterizována, výrobce Lidl Stiftung & Co.KG, Stiftsbergstr. 1, D-74167 Neckarsulm

Šarže je uvedena jako datum minimální trvanlivosti výrobku: 08 2007/17.

### 3.2 Metody

#### 3.2.1 Stanovení relativní hustoty podle normy ČSN EN 1131 [7]

Norma ČSN EN 1131 specifikuje metodu stanovení relativní hustoty  $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$  ovocných a zeleninových šťáv. Relativní hustota  $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$  je definována jako hmotnost známého objemu analytického vzorku při 20 °C dělená hmotností stejného objemu odvzdušněné vody při 20 °C (bezrozměrné číslo).

*Chemikálie:* Voda prostá plynů odpovídající nejméně stupni 3 podle ISO 3696:1987, roztok dichromanu draselného a kyseliny sírové (na čištění pyknometru).

*Přístroje a pomůcky:* Analytické váhy, Reischauerův pyknometr na 50 ml se skleněnou zábrusovou zátkou, nálevka, vodní lázeň nastavitelná na 20 °C, kapilára, tampony na osušení pyknometru, skleněná kapilára.

*Postup:* Suchý pyknometr se zváží a přesností na 4 desetinná místa, pak se naplní odvzdušněnou vodou nad rysku, uzavře se zátkou a vytemperuje se na 20 °C. Kapilárou se upraví výška hladiny vody tak, aby se spodní okraj menisku právě dotýkal rysky pyknometru. Potom se prázdná část hrdla pyknometru vysuší tampónem, pyknometr se uzavře zátkou, dobře se zvnějšku osuší a zváží přesně na 4 desetinná místa. Postup plnění a vážení pyknometru s vodou se opakuje třikrát a stanoví se průměrná hmotnost. Potom se pyknometr opakovaně vypláchne vzorkem, naplní se vzorkem nad rysku a dále se postupuje stejně jako předtím s vodou.

### **3.2.2 Stanovení obsahu rozpustné sušiny – refraktometrická metoda podle ČSN EN 12143 [8]**

Norma ČSN EN 12143 upřesňuje refraktometrickou metodu stanovení obsahu rozpustné sušiny v ovocných a zeleninových šťávách. Udává se v % hmotnosti sacharosy ve vodném roztoku, který má za daných podmínek stejnou refrakci jako analyzovaný výrobek. Obsah rozpustné sušiny se vyjadřuje v gramech na 100 g. Vzhledem k vysokému obsahu kyselin v citrusových šťávách a koncentrátech se při stanovení obsahu refraktometrické sušiny provádí korekce na obsah kyselin.

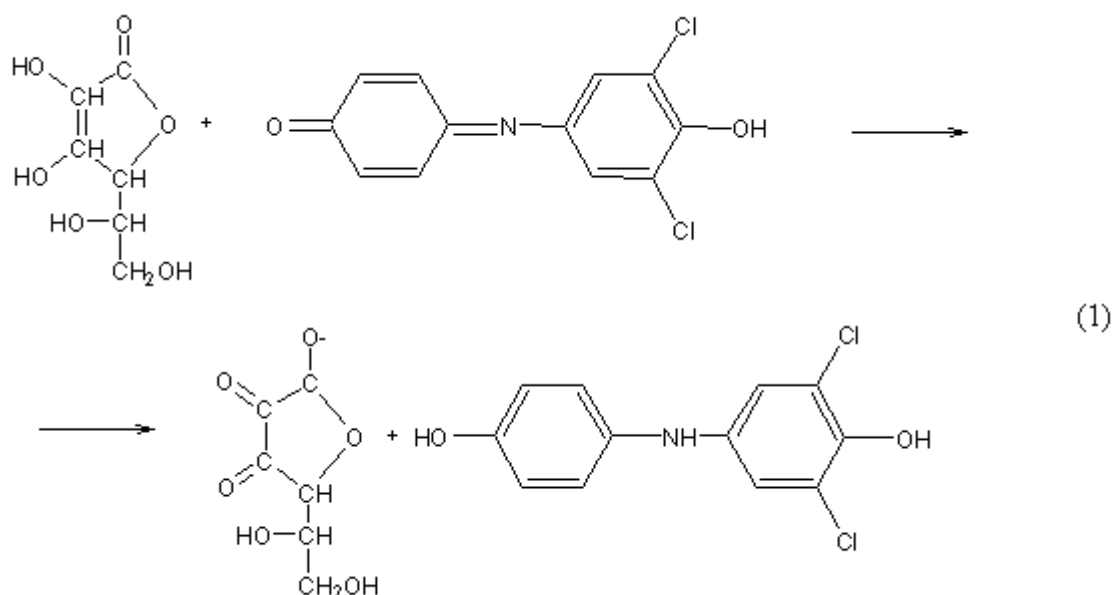
*Chemikálie:* Používají se pouze chemikálie čistoty p.a. a voda.

*Přístroje a pomůcky:* Refraktometr.

*Postup:* Stanovení obsahu rozpustné sušiny se obvykle provádí při teplotě  $20\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ . Před každým měřením se opláchnou skleněné hranoly refraktometru destilovanou vodou a osuší se filtračním papírem. Vzorek se před měřením řádně promíchá a malé množství vzorku se nanese na spodní hranol refraktometru tak, aby byl hranol dostatečně pokryt vzorkem po jeho sevření mezi ploškami přístroje. Index lomu se odečte z refraktometru a odpovídající procentový obsah sacharosy se vyhledá v tabulce. U každého vzorku se provádějí alespoň dvě paralelní měření.

### **3.2.3 Titrační stanovení kyseliny L-askorbové [9]**

Stanovení kyseliny askorbové je založeno na titraci vzorku odměrným roztokem 2,6- dichlorfenolindofenolu v kyselém prostředí kyseliny monohydrogenfosforečné. Prvním přebytkem roztoku 2,6-dichlorfenolindofenolu se vzorek zbarví do růžova. Reakce probíhá podle rovnice:



*Chemikálie:* Kyselina askorbová p. a., 2,6-dichlorfenolindofenol ( $c = 0,001 \text{ mol l}^{-1}$ ), 2% kyselina monohydrogenfosforečná.

*Přístroje a pomůcky:* Byreta, pipeta 10 ml, odměrné baňky 50 a 100 ml, titrační baňka.

*Postup:* 1. *Standardizace odměrného roztoku 2,6-dichlorfenolindofenolu:* K předem připravenému 1 ml standardního roztoku kyseliny askorbové (100 mg pevné látky se rozpustí ve 100 ml odměrné baňce ve 2% roztoku kyseliny monohydrogenfosforečné) se přidá 10 ml 2% roztoku kyseliny monohydrogenfosforečné a vše se titruje se roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu do růžového zbarvení.

2. *Vlastní stanovení:* 10 ml vzorku se pipetuje do 50 ml odměrné baňky a doplní po značku destilovanou vodou. Z připraveného roztoku se pipetuje 10 ml do titrační baňky, přidá se 10 ml 2% kyseliny monohydrogenfosforečné a titruje se odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu do růžového zbarvení, které se nemění 15 s. Titrace se opakuje třikrát a vypočítá se průměrná hodnota.

### 3.2.4 Stanovení hodnoty pH podle ČSN EN 1132 [10]

Norma ČSN EN 1132 specifikuje metodu stanovení pH ovocných a zeleninových šťáv. Podle definice je pH záporná hodnota logaritmu koncentrace vodíkových iontů v molech na litr roztoku. Hodnota pH se měří potenciometricky.

*Chemikálie:* Tlumivé roztoky na kalibraci pH metru.

*Pomůcky a přístroje:* pH metr, kombinovaná pH skleněná elektroda, magnetické míchadlo.

*Postup:* Kalibrace pH metru a elektrody se provádí podle návodu výrobce. Před každým měřením se elektroda důkladně opláchne vodou a osuší buničinou. Hodnota pH vzorku se měří pH metrem za stálého míchání.

### 3.2.5 Stanovení titrační kyselosti podle ČSN EN 12147 [11]

Norma ČSN EN 12147 specifikuje metodu stanovení titrační kyselosti ovocných a zeleninových šťáv. Podle definice je titrační kyselost míra obsahu minerálních látek a organických kyselin stanovená podle této normy. Podstatou stanovení je potenciometrická titrace standardním roztokem hydroxidu sodného do hodnoty pH 8,1.

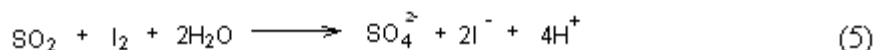
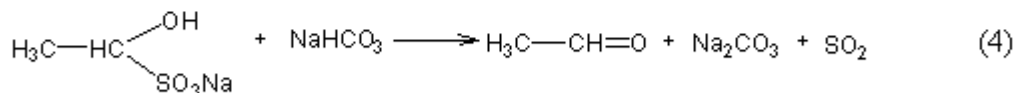
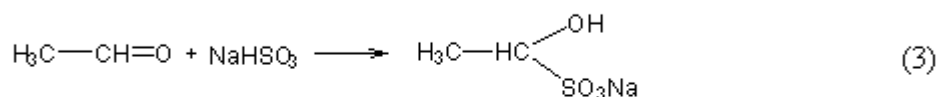
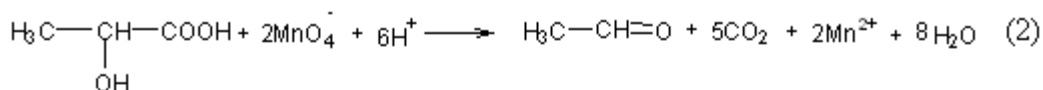
*Chemikálie:* Hydroxid sodný ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ), roztoky tlumivých roztoků pro kalibraci pH metru.

*Pomůcky a přístroje:* pH metr, kombinovaná skleněná elektroda, magnetické míchadlo, byreta na 25 ml dělená po 0,05 ml, kádinka 100 ml, nedělená pipeta na 25 ml.

*Postup:* 25 ml vzorku se napipetuje nedělenou pipetou do 100 ml kádinky. Zapne se míchadlo a titruje se odměrným roztokem NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) do hodnoty pH = 8,1.

### 3.2.6 Stanovení kyseliny mléčné [9]

*Princip:* Kyselina mléčná reaguje s manganistanem draselným za vzniku acetaldehydu, který se v předloze váže na siřičitan sodný. Nezareagovaný siřičitan sodný se titruje jodem na škrobový maz. Vzniklý aldehydbisulfid se rozloží hydrogenuhlíčitanem sodným a uvolněný oxid siřičitý se stanoví jodometricky.



*Chemikálie:* 10% wolframan sodný, kyselina sírová ( $c = 0,33 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ), 10% síran měďnatý, 10% suspenze hydroxidu vápenatého, roztok síranu manganatého, manganistan draselný ( $c = 0,002 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ), jod ( $c = 0,025 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ), jod ( $c = 0,0025 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ), 0,5% roztok škrobu, hydrogenuhličitan sodný, 1% hydrogensířičitan sodný.

*Přístroje a pomůcky:* Destilační přístroj pro stanovení kyseliny mléčné, odměrné baňky 50 ml, pipety 25 ml, 10 ml, 5 ml, filtrační aparatura, byreta, vývěva.

*Postup:* 10 ml vzorku se pipetuje do 50 ml odměrné baňky a přidá se 10 ml 10% roztoku wolframanu sodného a 10 ml kyseliny sírové ( $c = 0,33 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ), silně se protřepe, doplní se po značku a zfiltruje. Dále se odpipetuje 25 ml filtrátu do 50 ml odměrné baňky, přidá se 10 ml 10% roztoku síranu měďnatého a 10 ml 10% suspenze hydroxidu vápenatého, důkladně se protřepe, nechá půl hodiny stát, doplní se vodou po značku, promíchá a filtruje. 5 ml takto upraveného vzorku se napipetuje do destilační baňky přístroje, přidá se 10 ml roztoku síranu manganatého a 55 ml vody a pomalu se zahřívá za stálého chlazení a mírného prosávání vývěvou. Do předlohy se odměří asi 10 ml roztoku hydrogensířičitanu sodného. Při začínajícím varu se začne přikapávat do destilační baňky manganistan draselný ( $c = 0,002 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) takovou rychlostí, aby se předcházející kapka odbarvila. Oxidace trvá asi 20 minut a konec reakce se projeví fialovým až hnědým zabarvením reakční směsi. Po ukončení reakce se přikapává ještě asi 5 minut roztok manganistanu draselného, potom se předloha odpojí a vývod chladiče se opláchne vodou do předlohy.. Obsah předlohy se kvantitativně přelije do titrační baňky, přidá se 1 ml škrobu a přebytek hydrogensířičitanu sodného se titruje roztokem jodu ( $c = 0,025 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Konec titrace se dotitruje roztokem jodu

( $c = 0,0025 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Po skončení reakce se rozloží aldehydbisulfit přidáním 1 g hydrogenuhličitanu sodného a znovu se titruje roztokem jodu ( $c = 0,0025 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ).

### 3.2.7 Stanovení formolového čísla podle ČSN EN 1133 [12]

Tato norma specifikuje stanovení formolového čísla ovocných a zeleninových šťáv. Formolové číslo je definováno jako počet milimolů hydroxidu sodného spotřebovaného na jeden litr analytického vzorku. Za účelem shody s již existujícími metodami se formolové číslo vyjadřuje jako počet mililitrů hydroxidu sodného ( $c = 0,25 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) spotřebovaného na 100 ml analytického vzorku. Podstata metody spočívá v tom, že po přidání roztoku formaldehydu do analytického vzorku se uvolní z každé přítomné molekuly aminokyseliny jeden ion  $\text{H}^+$ . Tento ion je následně potenciometricky titrován roztokem hydroxidu sodného. Formolové číslo je tedy mírou obsahu aminokyselin ve vzorku kromě histidinu, který nereaguje, a dále prolinu a hydroxyprolinu, které reagují asi ze 75 %.

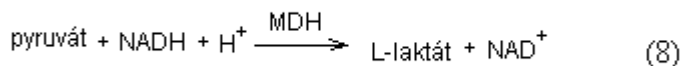
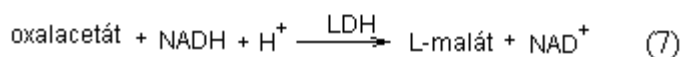
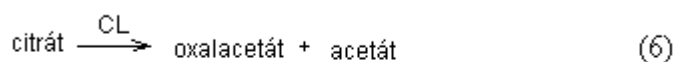
*Chemikálie:* Roztok hydroxidu sodného ( $c = 0,25 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ), roztok formaldehydu (pH 8,1).

*Pomůcky a přístroje:* pH metr, kombinovaná skleněná elektroda, elektromagnetické míchadlo, byreta na 25 ml, pipeta na 25 ml, kádinka 100 ml.

*Postup:* 25 ml vzorku šťávy se v kádince upraví na pH 8,1 přidávkem roztoku hydroxidu sodného ( $c = 0,25 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) za stálého míchání pomocí pH metru. K takto připravenému roztoku se přidá 10 ml roztoku formaldehydu, nechá se 1 minutu ustát a za stálého míchání se titruje roztokem hydroxidu sodného ( $c = 0,25 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) do pH 8,1.

### 3.2.8 Enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové ČSN EN 1137 [13]

Tato norma specifikuje metodu enzymového stanovení obsahu kyseliny citronové přítomné ve formě kyseliny nebo jejích solí v ovocných a zeleninových šťávách. Metoda je založena na enzymové přeměně citrátu na oxalacetát. Pyruvát se tvoří spontánní dekarboxylací oxalacetátu a následná enzymová redukce oxalacetátu a pyruvátu redukovanou formou  $\beta$ -nikotinamid-adenindinukleotidu (NADH) je spektrofotometricky sledována. Obsah kyseliny citronové odpovídá celkovému množství zreagovaného NADH, což se projeví poklesem absorbance při 340 nm.



*Chemikálie:* Glycylglycinový tlumivý roztok (pH = 7,8), roztok NADH, suspenze enzymů malátdehydrogeasy a laktátdehydrogenasy (MDH/LDH), suspenze enzymu citrátlyasy (CL).

*Pomůcky a přístroje:* Pipety, kyvety, spektrofotometr.

*Postup:* Je třeba nejprve připravit slepý pokus a to tím způsobem, že se do kyvety napipetuje 1,00 ml glycylglycinového tlumivého roztoku, 0,10 ml roztoku NADH, 2,00 ml destilované vody a 0,02 ml suspenze enzymů MDH/LDH. Vše se promíchá a po 5 minutách se odečte absorbance ( $A_1$ )<sub>slepého pokusu</sub> proti vzduchu. Dále se připraví roztok vzorku a to tím způsobem, že se do kyvety napipetuje 1,00 ml glycylglycinového tlumivého roztoku, 0,10 ml roztoku NADH, 1,80 ml destilované vody, 0,20 ml analytického vzorku (100 zředění pomerančového šťáv) a 0,02 ml suspenze enzymů MDH/LDH. Vše se promíchá a po 5 minutách se odečte absorbance ( $A_1$ )<sub>vzorku</sub> proti vzduchu. Enzymová reakce se startuje přidáním 0,02 ml suspenze enzymu CL do každého z roztoků, obsah se promíchá a po ukončení reakce cca 10 minut se odečte absorbance  $A_2$ . Ukončení reakce se ověřuje opakovaným měřením po 2 minutách tak dlouho, až se absorbance nemění.

### 3.2.9 Stanovení aminokyselin automatickým analyzátozem [9]

*Princip:* Při stanovení aminokyselin v peptidech a proteinech je nutno vzorek nejprve hydrolyzovat kyselinou chlorovodíkovou ( $c = 6 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) 24 hodin při 110 °C. Volné aminokyseliny je možno stanovit bez předchozí hydrolýzy, bílkoviny je nutno předem odstranit např. kyselinou sulfosalicylovou. Ke stanovení aminokyselin se používají automatické analyzátory, které pracují na principu iontové výměnné chromatografie, a jejich nejdůležitější součástí je chromatografická kolona naplněná katexem. Aminokyseliny jsou na kolonu zaváděny při nízkém pH ve formě kationtů a jsou poutány na povrchu katexu. Potom jsou postupně uvolňovány z povrchu katexu působením vhodných elučních roztoků (pufrů).



Po eluci z kolony aminokyseliny reagují s ninhydrinem za vzniku červenofialového zbarvení, které se stanoví spektrofotometricky.

*Chemikálie:* Standardní roztok aminokyselin, standardní roztok asparaginu a glutaminu, ninhydrinové činidlo, lithiocitronanové pufrы pH 2,7; 3,0; 3,4; 4,0 a 4,6; ředicí pufr pH 2,2; roztok hydroxidu lithného ( $c = 0,3 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ).

*Přístroje a pomůcky:* Automatický analyzátor aminokyselin T 339, software CSW, přístroj na dávkování vzorku, kádinky, nálevka, filtrační papír se žlutou páskou, odměrná baňka 50 ml, pipety 5 ml.

*Postup:* Nejprve se musí připravit standardní roztok aminokyselin (250 nmol každé aminokyseliny v 1 ml) tak, že se do odměrné baňky na 50 ml pipetuje 5 ml standardního roztoku aminokyselin a 5 ml standardního roztoku asparaginu s glutaminem a doplní se po značku ředicím pufrem. Roztok se dávkuje pomocí dávkovacího přístrojku a injekční stříkačky do kazety. Naplněná kazeta se vloží do automatického dávkovače analyzátoru. Z kazety se v průběhu analýzy odměří automaticky v kalibrované smyčce 0,1 ml, tzn. že na kolonu přichází 25 nmol každé aminokyseliny ze standardu. Dále se musí připravit vzorek tím způsobem, že se 10 ml vzorku pomerančové šťávy se napipetuje do 50 ml odměrné baňky a doplní ředicím pufrem pH 2,2 po značku. Roztok se přefiltruje přes filtrační papír, čirý roztok se dávkuje do kazety stejně jako standardní roztok aminokyselin a vloží se do automatického dávkovače analyzátoru za kazetu se standardem. Při obsluze přístroje se postupuje podle pokynů výrobce.

## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Stanovení relativní hustoty podle normy ČSN EN 1131 [7]

Číslo měření	Prázdný pyknometr $m_a$ [g]	Pyknometr s vodou $m_b$ [g]	Pyknometr se vzorkem $m_c$ [g]
1	22,9366	48,1970	49,3729
2	22,9365	48,1962	49,3765
3	22,9366	48,1970	49,3680
<b>Průměrná hodnota</b>	<b>22,9366</b>	<b>48,1967</b>	<b>49,3725</b>

Relativní hustota  $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$  vzorku se vypočte podle následujícího vztahu:

$$d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}} = \frac{(m_c - m_a)}{(m_b - m_a)}$$

Kde  $m_a$  je průměrná hmotnost prázdného pyknometru v g;  
 $m_b$  průměrná hmotnost pyknometru naplněného vodou při 20 °C v g;  
 $m_c$  průměrná hmotnost pyknometru naplněného analytickým vzorkem při 20 °C v g.

Relativní hustota  $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$  se vyjádří na 4 desetinná místa.

$$d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}} = \frac{(m_c - m_a)}{(m_b - m_a)} = \frac{49,3725 - 22,9366}{48,1966 - 22,9366} = \underline{\underline{1,0465\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}}}$$

Relativní hustota byla stanovena na  $1,0465\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ . Norma ČSN 56 8541 udává minimální hodnotu relativní hustoty pomerančové šťávy  $1,040\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , hustota vzorku tedy vyhovuje normě.

#### 4.2 Stanovení obsahu rozpustné sušiny – refraktometrická metoda podle ČSN EN 12143 [8]

Číslo měření	Index lomu
1	1,3505
2	1,3505
3	1,3505
<b>Průměrná hodnota indexu lomu</b>	<b>1,3505</b>

Z tabulky Mezinárodní stupnice vztahu koncentrace a indexu lomu cukerných roztoků (při 20 °C) [3] se odečetla procenta sacharosy 11,73 %.

Obsah rozpustné sušiny se obvykle vyjadřuje v gramech sacharosy na 100 g výrobku. Získaný výsledek je obsah cukrů v % stanovený refraktometrickou metodou. Hodnota se odečítá přímo. U citrusových šťáv a koncentrátů se provádí tzv. „korekce na obsah kyselin“ přičtením hodnoty vypočtené podle následujícího vztahu k odečtené refrakci:

$$0,012 + 0,193 \cdot m - 0,0004 \cdot m^2$$

kde  $m$  je celkový obsah kyselin vyjádřený v gramech bezvodé kyseliny citronové (EN 12147:1996) na 100 g stanovený titrací do pH 8,1.

Přepoččet na hmotnost v 1 l udává vztah z titrační kyselosti:

$$m = c_{H^+} \cdot f$$

kde  $c_{H^+}$  je titrační kyselost a  $f$  je faktor bezvodé kyseliny citronové.

$$m = 144,0445 \cdot 0,064 = \underline{9,22 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}}$$

$$0,012 + 0,193 \cdot 9,22 - 0,0004 \cdot 9,22^2 = \underline{\underline{1,7551}}$$

Obsah rozpustné sušiny vyjádřený v gramech sacharosy ve 100 g vzorku činil:

$$11,73 + 1,7551 = \underline{\underline{13,49 \text{ g}}} \text{ ve 100 g vzorku}$$

V pomerančové šťávě DIZZY bylo refraktometricky stanoveno 13,49 % rozpustné sušiny. Norma ČSN 56 8541 udává minimální hodnotu refraktometrické sušiny v pomerančové šťávě 10 %, vzorek tedy vyhovuje normě.

#### 4.3 Titrační stanovení kyseliny L-askorbové [9]

Standardizace 2,6-dichlorfenolindofenolu:

Číslo měření	V [ml]
1	6,70
2	6,70
3	6,75
<b>Průměrná hodnota</b>	<b>6,72</b>

Slepý pokus – titrace 10 ml 2% roztoku kyseliny monohydrogenfosforečné odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu:

Číslo měření	Slepý pokus
1	0,30
2	0,30
3	0,25
<b>Průměrná hodnota</b>	<b>0,28</b>

Titrace roztoku vzorku odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu:

Číslo měření	Vzorek
1	5,70
2	5,70
3	5,65
<b>Průměrná hodnota</b>	<b>5,68</b>

Výpočet faktoru, který udává počet mg kyseliny L-askorbové (1 mg kyseliny odpovídá 1 ml titračního činidla).

$$f = \frac{V_a}{V_b - V_c}$$

kde  $V_a$  je objem standardního roztoku kyseliny askorbové (1 ml),  $V_b$  je spotřeba roztoku 2,6-dichlorfenolindofenolu na 1 ml standardního roztoku v ml a  $V_c$  je spotřeba 2,6-dichlorfenolindofenolu na slepý pokus v ml

$$f = \frac{1}{6,72 - 0,28} = \underline{0,1554 \text{ mg}} \text{ kyseliny askorbové / 1 ml titračního činidla}$$

Od průměrné spotřeby na titraci vzorku se odečte spotřeba na slepý pokus:

$$5,68 - 0,28 = \underline{5,40 \text{ ml}}$$

0,1554 mg kyseliny askorbové ..... 1 ml titračního činidla

x mg kyseliny askorbové..... 5,40 ml titračního činidla

$$x = \frac{5,40 \cdot 0,1554}{1} = \underline{0,8893 \text{ mg}} \text{ kyseliny askorbové}$$

Obsah kyseliny askorbové v 10 ml je 5x zředěného vzorku na obsah 50 ml:

0,8893 mg ..... 10 ml

x mg ..... 50 ml

$$x = \frac{0,8893 \cdot 50}{10} = \underline{4,1969 \text{ mg kyseliny askorbové}}$$

Přepočet na 1000 ml:

4,4171 mg kyseliny askorbové ..... 10 ml

x mg ..... 1000 ml

$$x = \frac{4,1969 \cdot 1000}{10} = \underline{419,69 \text{ mg kyseliny askorbové v 1 l}}$$

Zkoumaný vzorek pomerančové šťávy DIZZY obsahoval 419,69 mg·l<sup>-1</sup> kyseliny askorbové. Norma ČSN 56 8541 udává minimální hodnotu kyseliny L-askorbové 200 mg·l<sup>-1</sup>, zkoumaný vzorek tedy vyhovoval normě.

#### 4.4 Stanovení hodnoty pH podle ČSN EN 1132 [10]

Změření pomocí pH metru:

Číslo měření	Hodnota pH
1	3,61
2	3,62
3	3,62
<b>Průměrná hodnota</b>	<b>3,62</b>

pH analyzované pomerančové šťávy Dizzy bylo 3,62. ČSN EN 1132 hodnotu pH neurčuje.

#### 4.5 Stanovení titrační kyselosti podle ČSN EN 12147 [10]

Výpočet teoretické navážky kyseliny šťavelové na standardizaci:

$$m = M \cdot c \cdot V$$

kde  $m$  je hmotnost [g] kyseliny šťavelové;

$M$  relativní molekulová hmotnost kyseliny šťavelové =  $126,07 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  ;

$c$  koncentrace [ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ] kyseliny šťavelové;

$V$  objem [ml] kyseliny šťavelové.

$$m = 126,07 \cdot 0,1 \cdot 0,1 = \underline{1,2607 \text{ g}} \text{ kyseliny šťavelové}$$

Skutečná hmotnost: 1,2790 g kyseliny šťavelové.

Výpočet skutečné koncentrace kyseliny šťavelové:

$$c = \frac{m}{M \cdot V}$$

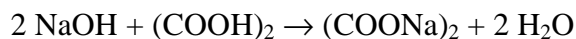
$$c = \frac{1,2790}{126,07 \cdot 0,1} = \underline{0,1015 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}} \text{ kyselina šťavelová}$$

Standardizace roztoku hydroxidu sodného ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ )

Spotřeba odměrného roztoku hydroxidu sodného je vynesena do tabulky:

Číslo měření	$V_{\text{NaOH}}$ [ml]
1	8,05
2	8,05
3	8,10
<b>Průměrná hodnota</b>	<b>8,07</b>

Reakce probíhá podle rovnice:



Výpočet skutečné koncentrace hydroxidu sodného:

$$c_{\text{NaOH}} = \frac{c_{(\text{COOH})_2} \cdot V_{(\text{COOH})_2} \cdot v_{\text{NaOH}}}{V_{(\text{COOH})_2} \cdot v_{\text{NaOH}}}$$

kde  $c_{\text{NaOH}}$  je koncentrace [ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ] hydroxidu sodného,  $c_{(\text{COOH})_2}$  je vypočítaná koncentrace [ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ] kyseliny šťavelové,  $V_{(\text{COOH})_2}$  je objem [ml] kyseliny šťavelové potřebný při standardizaci NaOH,  $v_{\text{NaOH}}$  je stechiometrický koeficient hydroxidu sodného,  $v_{(\text{COOH})_2}$  je stechiometrický koeficient kyseliny šťavelové a  $V_{\text{NaOH}}$  je objem hydroxidu sodného v ml spotřebovaný na titraci.

$$c_{\text{NaOH}} = \frac{0,1015 \cdot 10 \cdot 2}{1 \cdot 8,07} = \underline{0,2515 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}} \text{ hydroxidu sodného}$$

Vlastní stanovení vzorku:

Číslo měření	$V_{\text{NaOH}}$ [ml]
1	14,30
2	14,35
3	14,30
<b>Průměrná hodnota</b>	<b>14,32</b>

Titrační kyselost vypočítáme podle rovnice:

$$c_{\text{H}^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c_{\text{NaOH}}}{V_e}$$

kde  $V_0$  je objem podílu vzorku v ml (podle normy 25 ml),  $V_1$  objem roztoku hydroxidu sodného spotřebovaného při titraci v ml a  $c_{\text{NaOH}}$  je přesná koncentrace [ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ] odměrného roztoku hydroxidu sodného.



$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot 14,32 \cdot 0,2515}{25} = \underline{\underline{144,0445}}$$

Přepočet na hmotnost v 1 l udává vztah:

$$m = c_{H^+} \cdot f$$

kde  $c_{H^+}$  je titrační kyselost a  $f$  je faktor kyseliny citronové (bezvodé).

$$m = 144,0445 \cdot 0,064 = \underline{\underline{9,22 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}}}$$

Titrační kyselost vzorku byla stanovena na  $9,22 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Tento výsledek vyhovuje normě ČSN 56 8541, která udává hodnotu titrační kyselosti mezi  $5,8\text{--}15,4 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ .

#### 4.6 Stanovení formolového čísla ČSN EN 1133 [12]

Formolové číslo se vypočte podle vzorce:

$$\text{Formolové číslo} = 10 \cdot n$$

kde  $n$  je objem [ml] roztoku spotřebovaného k titraci.

Spotřeba roztoku hydroxidu sodného na titraci je uvedena v tabulce:

číslo měření	V [ml]
1	1,85
2	1,80
3	1,80
<b>průměr</b>	<b>1,82</b>

$$\text{Formolové číslo} = 10 \cdot 1,82 = \underline{\underline{18,2}}$$

Formolové číslo bylo stanoveno na 18,2. Norma ČSN 56 8541 udává hodnoty formolového čísla mezi 15 – 26. Formolové číslo zkoumaného vzorku tedy vyhovuje normě.

#### 4.7 Stanovení kyseliny mléčné [9]

Ze spotřebovaného množství jodu ( $c = 0,0025 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) při druhé titraci se vypočítá obsah kyseliny mléčné podle vztahu:

1 ml  $0,0025 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  jodu odpovídá 0,000225 g kyseliny mléčné

Spotřebu jodu ( $c = 0,0025 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) na titraci kyseliny mléčné udává tabulka:

číslo měření	V jodu [ml]
1	2,35
2	2,40
3	2,35
<b>Průměr</b>	<b>2,37</b>

1 ml roztoku  $\text{I}_2$  ( $c = 0,0025 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ).....0,000225 g kyseliny mléčné

2,37 ml roztoku  $\text{I}_2$  ( $c = 0,0025 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ )..... x g kyseliny mléčné

$$x = \frac{2,37 \cdot 0,000225}{1} = \underline{\underline{0,000533 \text{ g}} \text{ kyseliny mléčné}}$$

Přepočet obsahu kyseliny mléčné z 10 ml vzorku na 1000 ml:

10 ml roztoku vzorku.....0,00053 g kyseliny mléčné

1000 ml roztoku vzorku ..... x g kyseliny mléčné

$$x = \frac{1000 \cdot 0,00053}{10} = \underline{\underline{0,0533 \text{ g}}} \text{ kyseliny mléčné v 1 l vzorku}$$

V 1 litru pomerančové šťávy Dizzy bylo stanoveno 0,0533 g kyseliny mléčné. Tento výsledek vyhovuje normě ČSN 56 8541, která udává maximální hodnotu  $0,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ .

#### 4.8 Enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové ČSN EN 1137 [12]

Podle reakcí, na kterých je stanovení založeno, je množství použitého NADH (tj. rozdíl absorbance A) přímo úměrné koncentraci kyseliny citronové.

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{vzorku}} - (A_1 - A_2)_{\text{slepéhokusu}}$$

Změřená absorbance jednotlivých stanovení jsou zpracovány v tabulce:

<i>měření 1</i>	A před reakcí	A po reakci	rozdíl mezi měřeními
absorbance slepého vzorku	1,298	1,292	0,006
absorbance vzorku	1,274	1,263	0,027
	po 2 minutách	1,258	
	po 4 minutách	1,254	
	po 6 minutách	1,248	
	po 8 minutách	1,247	
	po 10 minutách	1,247	
		<b><math>\Delta A</math></b>	0,021

<i>měření 2</i>	A před reakcí	A po reakci	rozdíl mezi měřeními
absorbance slepého vzorku	1,289	1,283	0,006
absorbance vzorku	1,272	1,251	0,028
	po 2 minutách	1,245	
	po 4 minutách	1,244	
	po 6 minutách	1,244	
	po 8 minutách	1,244	
	po 10 minutách	1,244	
		<b><math>\Delta A</math></b>	0,022

<i>měření 3</i>	A před reakcí	A po reakci	rozdlí mezi měřeními
absorbance slepého vzorku	1,321	1,315	0,006
absorbance vzorku	1,308	1,287	0,028
	po 2 minutách	1,284	
	po 4 minutách	1,282	
	po 6 minutách	1,280	
	po 8 minutách	1,280	
	po 10 minutách	1,280	
		$\Delta A$	0,022
		$\sigma \Delta A$	<b>0,0217</b>

Výpočet koncentrace analyzované látky ve zředěném roztoku pomocí naměřených absorbance je založen na Lambert-Beerově zákonu.

Obsah kyseliny citronové, v gramech na litr vzorku se vypočte z následující rovnice:

$$\rho = \frac{M \cdot V_1 \cdot f}{\varepsilon \cdot \delta \cdot V_2 \cdot 1000} \cdot \Delta A$$

kde  $M$  je relativní molekulová hmotnost kyseliny citronové (bezvodé) = 192,1 g·mol<sup>-1</sup>,  $V_1$  je celkový objem [ml] roztoku v kyvetě,  $V_2$  je objem [ml] vzorku v kyvetě,  $f$  je faktor ředění,  $\delta$  je optická dráha kyvety [cm] a  $\varepsilon$  je extinkční koeficient NADH.

$$\rho = \frac{192,1 \cdot 3,14 \cdot 100}{6,3 \cdot 1,00 \cdot 0,02 \cdot 1000} \cdot 0,0217 = \underline{\underline{10,37 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}}}$$

Ve vzorku pomerančové šťávy Dizzy bylo stanoveno na 10,37 g·l<sup>-1</sup> kyseliny citronové. Norma ČSN 56 8541, udává obsah kyseliny citronové v rozsahu 6,3–17,0 g·l<sup>-1</sup>, vzorek tedy vyhovuje normě.

#### 4.9 Stanovení aminokyselin automatickým analyzátozem [9]

Výpočet množství jednotlivých aminokyselin ve vzorku se provede na základě srovnání ploch píků standardu a vzorku:

Vzorový výpočet pro asparagin:

2425,1369 jednotek plochy .....25 nmol Asn v 0,1 ml standardu

5212,0271 jednotek plochy .....x nmol Asn v 0,1 ml vzorku

$$x = \frac{5212,0271 \cdot 25}{2425,1369} = \underline{\underline{53,7292 \text{ nmol}}} \text{ Asn v 0,1 ml 5x zředěného vzorku}$$

v 1 litru 5x zředěného vzorku je 10 000x více, tj. 0,5373 mmol

v 1 litru nezředěné šťávy je  $0,5373 \cdot 5 = 2,6865$  mmol

$m(\text{Asn}) = 2,6865 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot 132,12 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} = \underline{\underline{357,30 \text{ mg}}}$  v 1 litru pomerančové šťávy

Vypočtené hodnoty byly zpracovány do tabulky:

AK	obsah ve vzorku [mg]	rozmezí předepsané normou	vyhovuje/nevyhovuje
Asp	357,30	200–400	vyhovuje
Thr	16,93	10–50	vyhovuje
Ser	171,03	105–210	vyhovuje
Asn	448,26	225–660	vyhovuje
Glu	147,22	max. 75	nevyhovuje
Pro	1219,97	450–2090	vyhovuje
Gly	19,28	10–25	vyhovuje
Ala	111,09	60–205	vyhovuje
Val	17,63	10–30	vyhovuje
GABA	384,35	180–500	vyhovuje
Amoniak	29,76	max. 25,5	nevyhovuje
Orn	1,20	3–20	nevyhovuje
Lys	30,84	20–65	vyhovuje
Arg	587,20	400–1000	vyhovuje

Z tabulky je vidět je zřejmé, že normu nesplňují pouze dvě aminokyseliny: glutamin, u kterého jsme naměřili  $147,22 \text{ mg.l}^{-1}$  a norma ČSN 56 8541 předepisuje obsah do  $75 \text{ mg.l}^{-1}$  a ornithin, u kterého jsme stanovili  $1,2 \text{ mg.l}^{-1}$  a norma ČSN 56 8541 předepisuje obsah  $3\text{--}20 \text{ mg.l}^{-1}$ . Vzhledem k tomu, že obsah většiny aminokyselin vyhovuje normě, lze pomerančovou šťávu Dizzy z hlediska obsahu aminokyselin považovat za pravou.

## **5 ZÁVĚR**

Analyzovaná pomerančová šťáva DIZZY splňuje kritéria pravosti ve vybraných parametrech, a proto ji lze z hlediska těchto parametrů považovat za pravou.

## 6 LITERATURA

- [1] ČSN 56 8541: *Ovocné a zeleninové šťávy – Pomerančová šťáva*. Praha: Český normalizační institut, 2001.
- [2] Machát, R: *Volné aminokyseliny v ovocných šťávách*. Diplomová práce FCH VUT, Brno 2000.
- [3] Večerková H.: *Cesty pomerančů ze stromu do sklenice*, 2000, <http://ekonomika.idnes.cz/test.asp?r=test&c=2000M021T05A>
- [4] F.A.I.M. concerted Action: *Food authenticity, issues and methodologies*, 1999.
- [5] <http://www.aoac.org/about/Overview.html>
- [6] Kotalová, L: *Ovocné šťávy – legislativa a falšování*. Bakalářská práce FCH VUT, Brno 2003.
- [7] ČSN EN 1131: *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení relativní hustoty*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [8] ČSN EN 12143: *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení obsahu rozpustné sušiny – refraktometrická metoda*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [9] Hrstka, M., Vespalcová, M: *Praktikum z analytické chemie potravin*. Pracovní sešit FCH VUT, Brno 2006.
- [10] ČSN EN 1132: *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení hodnoty pH*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [11] ČSN EN 12147: *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení titrační kyselosti*. Praha: Český normalizační institut, 1997.
- [12] ČSN EN 1133: *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení formolového čísla*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [13] ČSN EN 1137: *Ovocné a zeleninové šťávy – Enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové*. Praha: Český normalizační institut, 1996.



## 7 POUŽITÉ ZNAČKY

$^1\text{H}$  NMR –  $^1\text{H}$  nukleární magnetická rezonance

AAS – absorpční atomová spektroskopie

AIJN – Asociace výrobců ovocných šťáv a nektarů

AOAC – Oficiální asociace analytických chemiků

CL – enzym citrátlyasa

ČSN – česká technická norma

DNA – kyselina deoxyribonukleová

EQCS – Evropský systém kontroly kvality

EU – Evropská unie

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

ISO – Mezinárodní organizace pro standardizaci

MDH/LDH – malátdehydrogeasa/laktátdehydrogenasa

NADH –  $\beta$ -nikotinamidadenindinukleotid

rRNA – ribosomální kyselina ribonukleová

RSK – Předepsané hodnoty a rozmezí určených ukazatelů